



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Concurso Público para provimento de vagas de cargos Técnico-Administrativos – Edital nº 293/2016
Resultado do julgamento dos recursos interpostos contra as questões da Prova Objetiva

Opção de Vaga:
B-207 – Biólogo (Biologia Molecular)

Disciplina: Específica

Questão: 31

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1711559														
---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

O termo RNA polimerase na questão refere-se ao complexo enzimático responsável pela produção dos RNAs mensageiros, englobando todas as suas subunidades. É claro no texto que o termo se refere à holoenzima, sendo portanto infundada a alegação do requerente.

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 35

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1704772														
---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

RNA nesta afirmativa está sendo usado de forma abrangente. Em nenhum momento é dito que o RNA é sequenciado diretamente. Inclusive porque isto não seria possível. Os nomes dados às técnicas de sequenciamento de nova geração incluem inclusive o termo RNA, como RNA-seq, por exemplo. A afirmativa está, portanto, correta.

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 45

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1702024														
---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

O termo “clonagem” é usado em sentido amplo, referindo-se a todo processo de construção da *Pichia* recombinante - desde a amplificação do gene, etapas de construção do cassete de expressão até a inserção do cassete no DNA genômico da levedura. O termo “clonagem” é comumente utilizado dessa forma em livros texto, teses e manuais exemplos:

“The techniques for gene manipulation and cloning were first developed in bacteria but are now applied routinely in a variety of model eukaryotes.”
Modern Genetic Analysis. Griffiths AJF, Gelbart WM, Miller JH, et al. New York: W. H. Freeman; 1999.

Cloning, expression in *Pichia pastoris*, and characterization of a thermostable GH5 mannan endo-1,4- β -mannosidase from *Aspergillus niger* BK01 Microbial Cell Factories 2009 8:59 DOI: 10.1186/1475-2859-8-59

DUMMER, Luana Alves. Clonagem e expressão em *Pichia pastoris* da glicoproteína D (gD) de Herpesvírus Bovino tipo 5. 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

Como afirmado pelo próprio autor do recurso, a recombinação homóloga é uma das características do processo de clonagem de um gene heterólogo em Pichia.

Na alternativa, está claro que a recombinação homóloga refere-se à inserção do cassete de expressão no genoma da levedura, portanto, não há conflitos de lógica que possam confundir o candidato.

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 46

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1701891	1712835													
---------	---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

- Alternativa C:

A afirmativa avalia se o candidato entende que os sítios de restrição utilizados para a inserção do gene devem estar numa região específica do plasmídeo, posicionando o gene de interesse entre os vários elementos importantes para a expressão, como por exemplo, promotor e sequência terminadora. Como plasmídeos possuem sítios de restrição em diversos pontos de sua sequência, as enzimas de restrição utilizadas não podem ser escolhidas livremente. Isso é verdade, mesmo que o fragmento a ser clonado possua códon de iniciação e parada. Portanto, a opção C não pode ser considerada correta.

- Alternativa A:

De fato, em bactérias, um mesmo promotor pode controlar mais de um gene. No entanto a questão refere-se claramente à vetores de expressão de proteínas heterólogas. Plasmídeos desenvolvidos para esse fim possuem promotores independentes para a expressão do marcador de seleção e do gene de interesse. O marcador de seleção é expresso constitutivamente por um promotor independente, enquanto o gene de interesse é, frequentemente, sujeito a indução. A questão avalia se o candidato entende essa característica fundamental de vetores de expressão em *E.coli*, por isso, a alternativa A não pode ser considerada correta..

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 49

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1712835	1708742												
---------	---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

A alternativa D propõe, em linhas gerais, como seria o procedimento para o isolamento do gene codificante para amilase salivar de bovinos:

O material genético é extraído do tecido animal e é utilizada a técnica de RT-PCR com iniciadores específicos, para amplificar a sequência da amilase salivar.

Um dos autores demanda que o tecido seja especificado.

Qualquer tecido em que o gene seja expresso serviria como amostra para amplificação. No entanto, o enunciado da questão não fornece informação sobre o perfil de expressão do gene em diferentes tecidos e, por esse motivo, a alternativa não especifica a fonte de material genético. Assim, a falta desse detalhe experimental não compromete a validade da alternativa.

Outro ponto questiona se o uso do RT-PCR estaria correto.

No enunciado está claro que a finalidade do isolamento do gene é a expressão da proteína para fins biotecnológicos. Nesse caso, espera-se que o candidato entenda que é preciso amplificar a sequência codificante, ou seja, a sequência correspondente ao RNAm, sem a presença de eventuais íntrons. Na técnica de PCR o alvo de amplificação é o DNA genômico, portanto, a sequência amplificada poderia conter íntrons. Por isso, a amplificação deve ser feita, idealmente, por RT-PCR, ou seja, a partir do DNAc derivado da sequência do RNAm.

Um dos autores propõe que o uso de RT-PCR seria incorreto, pois alega que o gene é housekeeping. Genes housekeeping são genes constitutivamente expressos. Ou seja, genes cuja expressão é pouco regulada por condições ambientais. Mesmo que o gene da amilase salivar tenha características de um gene housekeeping (o autor não cita fontes para essa afirmativa), o RT-PCR continua sendo o método de escolha para amplificação da sequência correspondente ao RNAm. O outro autor justifica o uso do PCR dizendo: “RT-PCR é utilizado para o isolamento de genes em que o material genético é RNA e não DNA como é o caso.” Nessa afirmativa há erros conceituais. O autor parece desconhecer que em organismos celulares a sequência de proteínas é codificada tanto pela sequência de DNA genômico, quanto pela sequência de RNAm correspondente.

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 50

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1702168													
---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

A alternativa A avalia se o candidato entende que o uso do IPTG mimetiza o efeito regulador da lactose sobre o repressor lac de bactérias. O composto IPTG substitui a lactose na indução de genes heterólogos cujos promotores são regulados pelo repressor lacI. Enquanto a lactose é rapidamente consumida como nutriente, o que demanda um laborioso processo de reposição para garantir níveis adequados de expressão, o IPTG é um análogo não metabolizável. Assim, uma única adição ao meio de cultura garante níveis de expressão constantes.

A molécula de IPTG é, de fato, quimicamente similar a alolactose, que por sua vez, é uma modificação química da molécula de lactose. Assim ambos são análogos de lactose. Portanto, a alternativa B está correta. Essa informação consta em livros texto de biologia molecular:

Molecular Cell Biology. 4th edition., Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al. New York: W. H. Freeman; 2000.

“Some molecules similar in structure to lactose can induce expression of the lac-operon genes even though they cannot be hydrolyzed by β -galactosidase. Such small molecules (i.e., smaller than proteins) are called inducers. One of these, isopropyl- β -D-thiogalactoside, abbreviated IPTG, is particularly useful in genetic studies of the lac operon, because it can diffuse into cells and, since it is not metabolized, its concentration remains constant throughout an experiment.”

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 52

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1713199	1712835													
---------	---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

Falta de atenção completa nos DOIS recursos apresentados: química simples. As polimerases e as reações de PCR acontecem EM SOLUÇÃO AQUOSA.

São gotículas de ÁGUA em ÓLEO e NÃO ÓLEO EM ÁGUA!!

A REAÇÃO ACONTECE NA ÁGUA!! Veja o texto na letra C: " formando gotículas de óleo que contêm os reagentes de PCR, uma fita de DNA a ser sequenciado e uma "bead" para sua ancoragem".. reagentes de PCR, DNA, etc EM ÓLEO??? Claro que não! a reação acontece em gotículas de ÁGUA emulsionadas em ÓLEO, justo o contrário do que diz a letra C!!

A letra C NÃO procede.

O recurso não procede.

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 53

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1713199														
---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

O recurso confunde EFICIÊNCIA da reação com SENSIBILIDADE da reação. A sensibilidade é sim decorrente, entre outras coisas, da quantidade de DNA original molde. NÃO A EFICIENCIA, que depende das condições intrínsecas da reação (eficiência enzimática, conc. de sais, etc) e extrínsecas (interferentes químicos, temperatura errada, etc). Na primeira, a ausência de molde diminui a sensibilidade mas, caso haja amplificado, a curva de amplificação desloca-se para a esquerda ou direita de acordo com a maior ou menor disponibilidade de molde, mas sempre em paralelo mantendo a mesma tangente do angulo da curva de amplificação na sua transformação linear da exponencial $2eN$ (N =no de ciclos).

No segundo caso -eficiência- a queda de eficiência da reação faz a curva mudar seu angulo de tangente mesmo com a mesma quantidade de molde!, onde a eficiência pode ser notada pela formula da transformação da exponencial onde a eficiência máxima da PCR, $2eN$, modifica-se para $1,9eN$, $1,8eN$, ..., $1,3eN$ com a perda cada vez maior da eficiência.

Portanto, o recurso não procede.

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 54

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1712835														
---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

A curva de Melting é uma ferramenta utilizada ao final da amplificação (já finalizada! Atingindo o plateau..) com o fim de observar a identidade do produto amplificado através de sua complexidade (medida pela %GC que, junto com o tamanho N do amplicon, gera o Tm do fragmento gerado -o amplicon.

Portanto, este artefato (curva de Melting) NÃO AUMENTA a especificidade da reação, que inclusive já acabou (A curva de melting não faz parte da reação de PCR, mas é ajustada apos o seu fim apenas para evidenciar o Tm unico de um só amplicon gerado ou vários Tm de diferentes amplicons gerados por FALTA de ESPECIFICIDADE). De novo, a curva NÃO AUMENTA A ESPECIFICIDADE, ELA APENAS EVIDENCIA SE, DURANTE A FASE DE AMPLIFICAÇÃO (VERDADEIRA PCR!), HOUVE ESPECIFICIDADE ESPERADA OU NÃO.

Portanto o recurso não procede.

OBS.: em relação a ser uma RT-PCR ou não (só PCR) isso não tem NADA A VER com a curva de melting! Quem controla isso (ter amplificado RNA ou DNA contaminante) seria uma segunda reação-cópia, controle, com todos os componentes da primeira reação de RT-PCR MENOS A RT (transcriptase reversa). Esta reação controle não poderia amplificar já que o cDNA não seria gerado a partir do RNA, A NÃO SER que houvesse DNA genômico contaminante. Há uma tremenda confusão de técnicas aqui no recurso. Curva de melting não tem nada a ver com controle de contaminante g DNA em reação de RT-PCR!...

DE novo, não procede.

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**

Questão: 55

- Inscrições dos candidatos que interpuseram recurso:

1701891													
---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

- Parecer da Banca Examinadora:

Uma reação de PCR tem uma fase exponencial e depois segue uma fase de "plateau", quando, não importando o numero de ciclos a mais adicionados à reação, não se observa mais a amplificação exponencial do DNA. Nesta fase, os componentes da reação estão esgotados e o aumento de ciclos não representa uma real amplificação, não significa um aumento significativo no numero absoluto de amplicons gerados. Caso o numero de moléculas-alvo, original, seja pequeno demais para gerar (2eN) produtos de amplicon capazes de serem detectados pelos métodos de observação (em geral, gel de agarose), ainda que amplificados não poderão ser observados, detectados (sensibilidade baixa). Acontece que este produto (ou uma fração dele) poderá ser usado como MOLDE em uma segunda reação -a PCR aninhada, ou nested PCR- onde um segundo amplicon a ser amplificado a partir do primeiro (produto) da primeira reação, e por causa da maior disponibilidade estequiométrica, em massa, do amplicon original, aumentará a sensibilidade e gerará um segundo amplicon agora com resultado 2eN (N= numero de ciclos) numa reação nova não esgotada (mais enzima, fatores iônicos, sais, dNTP livre, etc) que resultará numa maior sensibilidade por aumento do numero de amplificados -amplicons. Acontece que este segundo amplicon é gerado por primers "aninhados" dentro dos primers da primeira reação. portanto temos um segundo primer a jusante "forward" e um segundo a montante "reverso" na segunda reação, para potencializar a primeira reação com os primeiros primers "forward" e "reverse" usados, por fora (amplicon maior) da primeira reação.

CASO todos os primers (4) fossem colocados juntos numa UNICA reação, isso não geraria um aumento da sensibilidade mas, ao contrario, GERARIA UMA COMPETIÇÃO ENTRE os dois primers "forward" e também entre os dois "REVERSE", gerando quatro tipos de amplicons possíveis numa unica reação a ser esgotada, competindo entre si pelos substratos (dNTP) e fatores prostéticos da reação (sais, Mg++), o que não ajudaria no aumento da sensibilidade, MAS PREJUDICARIA este objetivo, pela competição entre eles.

Portanto, não se faz nested PCR numa única reação por isso. A letra A assim afirmam, o que faz dela uma opção ERRADA.

O recurso não procede.

- Situação da questão: **mantida sem alteração de gabarito.**